

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

ANNÉE 1932

THÈSE

N° 10

POUR

LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1932

PAR

Daniel CROIZÉ

Né le 5 juillet 1908, à Hornoy (Somme)

INFLUENCE
DE L'ELECTROLYSE PROLONGEE

Sur les Solutions de Diastases

JURY { *Président* : STROHL, professeur à la Faculté de Médecine
 { *Assesseurs* : { MAIGNON, } professeurs à l'Ecole Nationale
 { NICOLAS, } Vétérinaire d'Alfort

PARIS

VIGOT FRÈRES ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1932

INFLUENCE
DE L'ÉLECTROLYSE PROLONGÉE

Sur les Solutions de Diastases

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

—
NÉE 1932

THÈSE

N° 10
—

POUR

LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1932

PAR

Daniel CROIZÉ

Né le 5 juillet 1908, à Hornoy (Somme)

INFLUENCE DE L'ELECTROLYSE PROLONGEE

Sur les Solutions de Diastases

JURY { *Président* : STROHL, professeur à la Faculté de Médecine
 { *Assesseurs* : { MAIGNON, } professeurs à l'Ecole Nationale
 NICOLAS, } Vétérinaire d'Alfort

PARIS

VIGOT FRÈRES ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1932

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Directeurs honoraires : MM. P.-J. CADIOT et H. VALLÉE

Directeur : M. E. NICOLAS

Professeurs honoraires : MM. G. BARRIER, Inspecteur général
honoraire des Ecoles Vétérinaires ; P.-J. CADIOT,
H. VALLÉE

PROFESSEURS ET CHARGES DE COURS

	MM.
Anatomie descriptive des animaux domestiques..	BRESSOU.
Physiologie, thérapeutique générale.....	MAIGNON.
Physique et Chimie médicales, toxicologie, pharmacie.....	NICOLAS.
Parasitologie et maladies parasitaires, clinique; Zoologie.	HENRY.
Pathologie médicale des équidés et des carnassiers, clinique; sémiologie et propédeutique, jurisprudence.	ROBIN.
Pathologie chirurgicale des équidés et des carnassiers, clinique; anatomie chirurgicale. médecine opératoire et ferrure.....	COQUOT.
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, clinique; médecine opératoire, obstétrique.	LESBOUYRIES.
Pathologie générale et microbiologie, maladies microbiennes et police sanitaire, clinique..	PANISSET.
Histologie et embryologie, anatomie pathologique; autopsies.....	PETIT.
Zootéchnie et économie rurale.....	DECHAMBRE.
Agronomie, botanique et hygiène; matière médicale.	DECHAMBRE et HENRY.
Industrie et contrôle des produits d'origine animale.	VERGE.

PROFESSEUR AGREGÉ

M. LESBOUYRIES

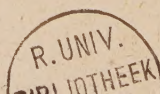
CHEF DE TRAVAUX AGREGÉ

M. SIMONNET

CHEFS DE TRAVAUX

MM. BRION, GORET, MONVOISIN, MOUSSU (R.), VALADE

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les
opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées
doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles
n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.



A MES PARENTS

A Monsieur le PROFESSEUR STROHL

*qui nous a fait le grand honneur d'accepter la
présidence de notre thèse.*

A Monsieur le PROFESSEUR NICOLAS

A Monsieur le PROFESSEUR MAIGNON

*Nous tenons à lui exprimer ici notre très vive
reconnaissance pour l'intérêt qu'il n'a cessé
de nous témoigner.*

INTRODUCTION

La complexité des phénomènes biologiques a été expliquée lorsque l'on a connu le rôle primordial joué par les diastases. Ces substances, véritables catalyseurs biochimiques, ont été extraites de toutes les cellules vivantes.

L'étude de la constitution de ces catalyseurs a fait l'objet de nombreux travaux. C'est ainsi que G. BERTRAND a montré, en étudiant une diastase spéciale, la laccase, que ces agents sont constitués de deux parties, une organique et une minérale = la laccase, privée de manganèse devient inactive vis-à-vis de l'hydroquinone; l'addition d'une infime quantité de sel marganeux lui rend immédiatement une activité disparue.

D'autre part, F. MAIGNON a constaté que l'électrolyse prolongée des solutions de diastases (diastases du suc pancréatique, amylase de l'orge grumée, diastases tissulaires animales), entraîne la perte d'activité, « qui semble résulter, d'après l'auteur, de la dissociation électrolytique du groupement organo-minéral constituant la diastase ». Cette perte d'activité complète pouvait être due, soit à la dissociation totale du groupement organo-minéral, avec, de la part des deux constituants, disparition de toute affinité tendant à la reconstitution de la diastase, soit à l'action empêchante de certains produits secondaires provenant de l'électrolyse.

F. MAIGNON a déjà montré que la petite quantité d'acide hypochloreux formé est hors de cause.

Sur les conseils de notre maître, M. le Professeur MAIGNON, qui a bien voulu nous associer à ses travaux, nous avons recherché si les modifications du pH survenues aux électrodes n'étaient pas responsables de cette perte d'activité.

Nous avons étudié également les phénomènes d'entraînement des diastases sous l'influence du courant électrique et recherché comparativement comment se comportent à cet égard la pepsine, la trypsine et les oxydases.

L'influence de l'électrolyse prolongée sur l'activité des diastases du rein, activité constatée sur un chien atteint d'insuffisance rénale, a aussi fait l'objet d'une expérimentation spéciale.

CHAPITRE PREMIER

EFFETS COMPARATIFS DE L'ÉLECTROLYSE SUR LES SOLUTIONS DE PROTÉINES INACTIVES ET LES SOLUTIONS DE DIASTASES

A. EXPOSÉ DES RÉSULTATS OBTENUS.

Les résultats sont tout différents lorsque nous soumettons à l'électrolyse une solution de diastase ou une solution de protéine ordinaire.

Nous avons par exemple électrolysé dans des tubes en U de 16 millimètres de diamètre avec électrodes de Pt (courant de 110 volts) une solution d'albumine d'œuf dans de l'eau distillée (cette solution ne laisse passer que 5 à 10 milliampères).

Dans ces conditions, le passage du courant ne tarde pas à déterminer après quelques minutes l'apparition d'un léger trouble à l'anode ; au contraire la branche négative s'éclaircit au niveau de la cathode. Peu à peu le trouble de la branche positive devient plus intense et tend à gagner le fond des branches du tube en U = ce coagulum se résout d'ailleurs en grumeaux qui, animés d'un mouvement montant et descendant, parcourent la branche positive. Après quelques heures, ces grumeaux deviennent de plus en plus fins, se rassemblent au bas des branches ; tout déplacement cesse bientôt dans la solution.

Quelques heures ont suffi pour amener le dépôt des grumeaux. La dissémination du dépôt dans le liquide à l'aide d'un agitateur détermine l'apparition de nouveaux mouvements très lents. Les grumeaux ne tardent d'ailleurs pas à se rassembler au bas du tube et bientôt une nouvelle agitation ne permet

plus aux grumeaux d'être entraînés par le courant : la déminéralisation complète de la protéine inactive a eu lieu en cinq heures.

Au contraire avec les diastases, comme l'a montré F. MAIGNON, il faudra plusieurs jours pour arriver à ce même stade de non entraînement des grumeaux par le courant électrique. Si l'on soumet à l'électrolyse prolongée dans les mêmes conditions une solution de diastase de suc pancréatique de vache dans l'eau distillée (cette solution ne laisse passer que 5 à 10 milliampères), on observe immédiatement l'apparition d'un coagulum dans la branche positive. Bientôt celui-ci se résout en grumeaux qui, animés d'un mouvement montant et descendant, parcourent cette branche positive. La négative au contraire reste complètement claire.

L'entraînement des grumeaux persiste ici plusieurs jours. S'ils ont tendance à se rassembler en dépôt au bas du tube, leur dissémination à l'aide d'un agitateur fait réapparaître un mouvement plus intense. Ce n'est qu'après quatre, cinq, parfois six jours que les grumeaux ne sont plus entraînés par le courant ; la déminéralisation est complète. Le dépôt brûle alors sans laisser de traces sur une lame de platine polie. « Le résidu, s'il en existe un, est non seulement invisible, mais inappréciable à la balance Curie au 1/10 de milligramme pour 32 milligrammes de dépôt, alors que le même poids de diastases non électrolysés laissait 3,4 milligrammes de cendres. » Les éléments minéraux de la diastase ont été en quelque sorte arrachés aux éléments organiques. Les micelles ne subissent plus alors d'entraînement électrique.

De plus nous verrons que la perte d'activité est totale.

B. EXPÉRIENCES.

Les quatre expériences suivantes vont nous permettre de suivre avec plus de détails la marche des électrolyses soit de protéines inactives, soit de diastases.

EXPÉRIENCE I (9 janvier 1930)

Electrolyse d'une solution d'albumine d'œuf

1° Préparation de la solution d'albumine d'œuf.

50 centigrammes d'albumine d'œuf sont dissous dans 100 centimètres cubes d'eau distillée.

2° Electrolyse de la solution. — Elle est pratiquée dans les conditions décrites précédemment.

A 9 heures 30, on fait passer le courant ; la quantité d'électricité qui passe est égale à 5 milliampères.

Peu après un éclaircissement se produit dans la branche négative ; sur 1 centimètre environ, la solution paraît plus claire au niveau de la cathode.

Un léger trouble apparaît en même temps dans la branche positive.

A 10 heures, la zone claire s'agrandit à la cathode ; au niveau de l'anode, le louche constaté tend à gagner le fond du tube.

A 10 heures 15, le trouble occupe maintenant les parties inférieures du tube, laissant les deux branches claires dans leur partie supérieure.

Une demi-heure plus tard, le coagulum s'est dissocié ; de fins grumeaux qui résultent de cette dissociation sont entraînés vers l'anode, montent et descendent dans la branche positive.

A 11 heures, des grumeaux sont encore en mouvement, mais certains d'entre eux se sont agglomérés au bas du tube pour former un dépôt compact.

D'autres grumeaux sont collés aux parois des branches.

Une heure plus tard, rien n'est changé. L'intensité du courant est maintenant de 8 milliampères.

A 13 heures, l'entraînement des quelques rares grumeaux qui sont encore en suspension dans le liquide, est de moins en moins intense. Les deux branches sont maintenant éclaircies sur toute leur hauteur.

A 14 heures, tout mouvement a cessé. L'électrolyse est arrêtée.

Notons qu'à ce moment le liquide de la branche négative est faiblement alcalin, alors que celui de la branche positive est très nettement acide.

Pour parvenir au stade de non entraînement des grumeaux, il a donc fallu 4 heures et demi d'électrolyse. Ce résultat concorde bien avec ce que nous avons dit.

EXPÉRIENCE II (29 octobre 1929)

Électrolyse d'une solution d'albumine d'œuf

1° Préparation de la solution d'albumine d'œuf.

0 gr. 5 d'albumine d'œuf du commerce sont dissous dans 100 centimètres cubes d'eau distillée.

La solution est obtenue à peu près limpide après plusieurs filtrations.

2° Electrolyse de la solution.

La solution d'albumine est versée dans un tube en U du modèle décrit plus haut.

A 13 heures 30, on lance le courant. Il passe six milli-ampères.

Un faible dégagement gazeux est observé aux deux électrodes.

A 13 heures 35, la solution s'éclaircit au niveau de l'électrode négative. Un léger trouble apparaît dans la branche positive.

A 14 heures 15, l'éclaircissement s'accroît dans toute la branche négative. Sur une hauteur de 1 centimètre et demi environ, la solution est également plus claire à l'anode. Le trouble apparu dans la branche positive tend en effet à gagner la partie inférieure du tube.

A 14 heures 45, de fins grumeaux sont visibles dans la branche positive où ils ont remplacé le louche vu antérieurement.

Ces grumeaux s'animent bientôt d'un mouvement montant et descendant à l'intérieur de la branche. Certains semblent attirés vers l'anode, d'autres au contraire retombent et s'accablent en dépôt au bas du tube.

L'intensité du courant électrique est alors de 9 milliampères.

A 15 heures 15, l'entraînement des grumeaux est toujours très intense dans la branche positive.

Dans la branche négative, la solution d'albumine est complètement claire.

A 15 heures 30, le dépôt de grumeaux s'épaissit au bas du tube. Sa dissémination à l'aide d'un agitateur fait réapparaître un courant montant et descendant plus intense.

A 16 heures, après agitation, les grumeaux rassemblés au bas du tube ou collés à ses branches sont encore entraînés par le courant ; cet entraînement est moins intense que primitivement.

A 17 heures 30, les grumeaux se sont disposés au fond du tube ; leur dissémination à l'aide d'un agitateur fait réapparaître un nouveau courant, mais de peu de durée ; les grumeaux retombent aussitôt au bas des branches.

La protéine inactive est complètement déminéralisée. Quatre heures ont suffi pour obtenir ce résultat.

EXPÉRIENCE III (20 mai 1930)

Électrolyse d'une solution de diastases de suc pancréatique

1° Préparation des diastases de suc pancréatique de vache.

Le suc pancréatique de vache fraîchement recueilli est traité par deux fois son volume d'alcool. Le précipité obtenu par filtration est desséché à l'étuve à 38°. En reprenant ensuite par l'eau, on obtient une solution de diastases de suc pancréatique.

2° *Préparation de la solution de diastase* (20 mai 1930).

8 heures 30. Dans 100 centimètres cubes d'eau distillée, nous plaçons 200 milligrammes de coagulum alcoolique desséché de suc pancréatique de vache finement pulvérisé. Après une heure, au cours de laquelle nous agitions fréquemment le liquide, nous filtrons la solution qui est obtenue limpide. Un léger dépôt reste sur le filtre, représentant l'albumine que renferme tout suc pancréatique.

3° *Electrolyse de la solution* (20 mai 1930).

A 9 heures 30, le courant est lancé. L'intensité est alors de 5 milliampères.

Le dégagement gazeux est assez abondant aux deux électrodes.

A 11 heures, de légères traînées blanchâtres sont en suspension dans la branche positive.

A 14 heures, toute la branche positive est uniformément trouble.

Au contraire, la branche négative est restée claire.

Aucun changement n'est observé au cours de l'après-midi.

A 21 heures 30, nous notons l'apparition de nombreux grumeaux très fins qui parcourent d'un mouvement lent, montant et descendant la branche positive.

La mousse est abondante au niveau des deux électrodes.

21 mai 1930.

A 8 heures, l'entraînement des grumeaux vers l'anode est toujours très intense.

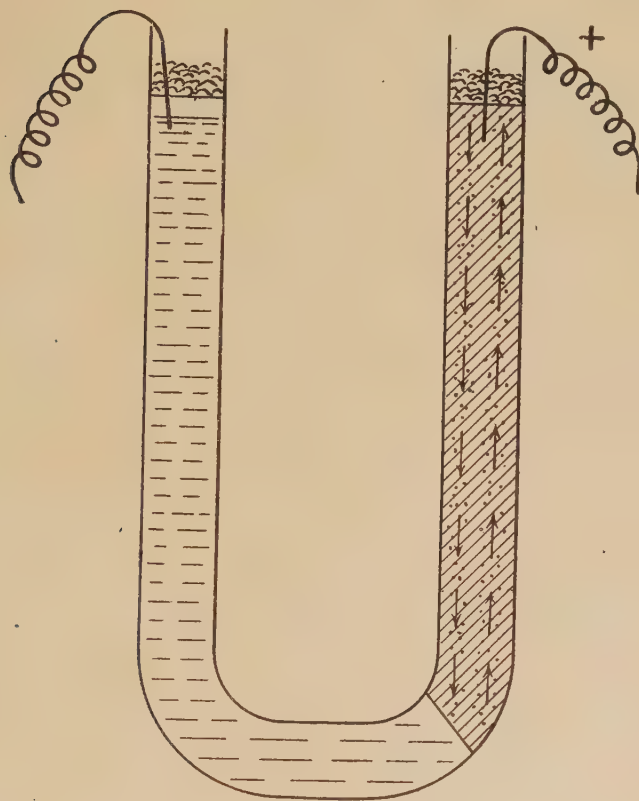
Dans la branche négative, restée claire, aucune changement n'est noté.

Un léger dépôt commence à se former à la partie inférieure du tube en U.

A 20 heures, quelques rares particules très fines animées d'un mouvement lent peuvent encore être distingués dans la branche positive.

EXPERIENCE III

Electrolyse d'une solution du diastase de suc pancréatique.



Aspect du tube en U à 21 h. 30, le 20 mai.

La branche postérieure est uniformément lourde, parcourue par de nombreux grumeaux très fins qui montent et descendent.

La branche négative est claire

La mousse est abondante au niveau des 2 électrodes.

22 mai 1930.

A 8 heures, l'entraînement des grumeaux vers l'anode se ralentit peu à peu, leur nombre diminue progressivement. Le dépôt inférieur devient de plus en plus abondant.

A 11 heures, à l'aide d'un agitateur, la dissémination des grumeaux qui constituent le dépôt et de ceux qui tapissent les parois du tube, fait réapparaître un mouvement plus intense dans la branche positive.

Notons que depuis le début de l'expérience, la branche négative est toujours restée claire.

A 17 heures, aucun changement n'est observé.

Depuis midi, l'entraînement des grumeaux est resté intense. L'intensité du courant électrique est de 6 milliampères.

23 mai 1930.

A 8 heures, le dépôt s'est reformé au bas des branches du tube en U. Quelques grumeaux montent et descendent encore dans la branche positive ; beaucoup sont collés aux parois intérieures du tube.

A 18 heures, les grumeaux entraînés sont de plus en plus rares et de plus en plus fins.

24 mai 1930.

A 8 heures, nous apercevons encore avec difficulté quelques rares grumeaux qui circulent dans la branche positive.

Après agitation, le dépôt ne tarde pas à se reformer, les grumeaux ne sont plus entraînés par le courant électrique.

A 12 heures, l'électrolyse est arrêtée.

A ce moment, le liquide de la branche positive est fortement acide au tournesol.

Au niveau de la cathode, au contraire, le liquide est alcalin.

Quatre jours ont donc été nécessaires pour obtenir une déminéralisation complète des diastases du suc pancréatique. Les expériences qui sont décrites dans les chapitres suivants contribuent à nous montrer que ce résultat est constant et que même parfois six jours sont nécessaires pour parvenir au stade de non entraînement des grumeaux.

EXPÉRIENCE IV (21 mars 1930)

Electrolyse d'une solution d'amylase de l'orge germée

1° Préparation de l'amylase.

De l'orge est mise à germer à la température du laboratoire (15°). Des feuilles de papier filtre continuellement humides sur lesquelles reposent les grains, contribuent à faciliter la germination.

Chaque jour les grains trouvés germés sont retirés et portés à l'étuve à 38°.

L'orge germée et desséchée, est alors réduite en farine. Celle-ci est mise à nouveau pendant cinq heures dans cinq fois son poids d'eau chloroformée. On presse, on filtre ; le filtrat est repris par deux fois son volume d'alcool. Le précipité obtenu est desséché à l'étuve à 38° ; en reprenant ensuite par l'eau, on obtient la solution d'amylase.

2° Préparation de la solution.

200 milligrammes du précipité obtenu sont versés dans 80 centimètres cubes d'eau distillée.

La filtration nous fournit une solution claire qui, par addition d'empois d'amidon, réduit la liqueur de Fehling.

3° Electrolyse de la solution.

21 mai 1930.

A 7 heures 30, on lance le courant.

Peu après, un trouble très net apparaît à la cathode, un louche plus léger entoure l'anode.

Une heure plus tard, le coagulum s'est épaissi et occupe toute la branche négative.

A 9 heures 30, un dépôt très abondant s'est formé au fond du tube.

A midi, on constate que le trouble occupe uniformément les deux branches. De plus, les grumeaux sont apparus dans la branche positive et sont entraînés vers l'anode.

Cet entraînement persiste jusqu'au soir.

22 mai 1930.

A 8 heures, le liquide est moins louche dans tout le tube.

Des grumeaux sont collés aux parois. Le dépôt est très important au bas des branches.

Peu à peu le trouble devient beaucoup plus net dans la branche positive.

Au contraire, un éclaircissement se produit à la cathode et ne tarde pas à se répandre dans toute la branche.

23 mars 1930.

Quelques rares grumeaux parcourent encore la branche positive. Certains sont collés aux parois ; l'agitation du liquide leur permet d'être entraînés à nouveau.

24 mars 1930.

Un léger louche persiste dans la branche positive. La dissémination du dépôt à l'aide d'un agitateur fait réapparaître un mouvement montant et descendant de fines particules attirées vers l'anode.

Toutefois ce courant dure peu et le dépôt se reforme dans l'après-midi.

25 mars 1930.

Une nouvelle agitation des grumeaux ne fait pas renaître l'entraînement.

L'électrolyse est arrêtée à midi.

Plus de quatre jours ont été nécessaires ici pour obtenir le non entraînement des flocons.

CHAPITRE II

ÉTUDES DE L'ENTRAÎNEMENT DES MICELLES DIASTASIQUES AU COURS DE L'ÉLECTROLYSE PROLONGÉE

A. EXPOSÉ DES RÉSULTATS OBTENUS.

Nous avons dit dans le chapitre précédent que le coagulum qui se forme dans la branche positive, lors de l'électrolyse d'une solution de suc pancréatique de vache, ne tarde pas à se résoudre en grumeaux qui bientôt sont entraînés vers l'électrode positive. Ce courant persiste jusqu'à ce que les micelles diastasiques soient complètement déminéralisées, jusqu'à ce que la solution ait perdu toute activité.

Lors de l'électrolyse prolongée d'une solution diastasi que quelconque on constate toujours cet entraînement de grumeaux, qui existe tantôt dans une branche, tantôt dans l'autre suivant la solution étudiée. Or, si en cours d'électrolyse, lors de l'apparition de l'entraînement des fines particules du coagulum, on prélève quelques centimètres cubes de la solution au sommet de chaque branche du tube en U, on constate que le liquide à activité diastasi que la plus grande est justement celui qui contient les grumeaux entraînés.

Les fines particules en mouvement seraient donc en quelque sorte constituées par des micelles diastasiques attirées jusqu'à l'électrode où elles se déminéralisent pour retomber ensuite définitivement au bout d'un certain temps au bas des branches où elles constituent le dépôt. Celui-ci, à la fin de l'électrolyse, brûle sans laisser de traces, comme nous l'avons dit plus haut ; le résidu est, de plus, inappréciable à la balance Curie

au dixième de milligramme pour 32 milligrammes de dépôt. La dissociation du groupement organo-minéral qui constitue la diastase est donc complète après électrolyse prolongée. Les micelles sont totalement déminéralisées.

Diverses expériences nous ont paru intéressantes à ce sujet.

Ces expériences portent sur une solution de pepsine et sur une solution d'oxydase tirée de champignons. Nous avons constaté lors de l'électrolyse prolongée que pour la pepsine comme pour la trypsine (toutes deux diastases hydrolysantes), l'entraînement des grumeaux avait lieu vers l'électrode positive, alors que pour l'oxydase (diastase oxydante), c'est vers l'électrode négative qu'a lieu cet entraînement.

Conformément à ce que nous avons dit plus haut, nous avons montré que, dès l'entraînement des grumeaux, lors de l'électrolyse de la pepsine, c'est le liquide de la branche positive qui est le plus actif. Lors de l'électrolyse de l'oxydase, au contraire, c'est le liquide de la branche négative.

De plus, en prolongeant suffisamment l'électrolyse, nous avons vu que l'activité diastasique de la solution disparaît beaucoup plus vite dans une branche que dans l'autre. C'est dans la branche où a lieu l'entraînement des micelles que l'activité persiste le plus longtemps.

B. EXPÉRIENCES.

EXPÉRIENCE I (14 mars 1931)

Électrolyse d'une solution de pepsine

L'électrolyse a été arrêtée après quatre heures.

Le liquide de la branche positive est encore actif.

Le liquide de la branche négative est complètement inactif.

1° Préparation de la solution de pepsine.

A 10 heures 30, 0 gr. 2 de pepsine du commerce (titre 250) sont placés dans 100 centimètres cubes d'eau distillée. Après une demi-heure, la dissolution est à peu près complète. Par

filtration, nous obtenons une solution limpide blanchâtre. Un léger dépôt reste sur le filtre.

Pour éprouver l'activité de cette solution diastasique, nous plaçons à l'étuve à 50° :

a) Un tube contenant 10 centimètres cubes de la solution de pepsine, un petit morceau de fibrine et un quart de centimètre cube d'acide chlorhydrique (la fibrine avait été recueillie antérieurement sur du sang de chien et conservée dans de la glycérine) ;

b) Un tube témoin contenant 10 centimètres cubes d'eau distillée, un petit morceau de fibrine et un quart de centimètre cube d'acide chlorhydrique.

Après quatre heures de séjour à l'étuve, la digestion de la fibrine est complète dans le premier tube.

Dans le tube témoin, aucun changement n'est observé.

2° *Electrolyse de la solution de pepsine.*

A 11 heures, le courant est lancé, l'intensité est de 6 milli-ampères.

A 11 heures 50, un louche uniforme est apparu dans les deux branches positive et négative.

A 15 heures, aucun changement n'est observé. La branche positive est parcourue par de fins grumeaux entraînés vers l'anode, à peine visibles.

3° *Constatation des résultats.*

A 15 heures, donc après quatre heures d'électrolyse, on arrête le courant.

A l'aide d'une pipette graduée :

1° 10 centimètres cubes de liquide sont prélevés au niveau de l'anode, neutralisés et placés dans un tube I ;

2° 10 centimètres cubes de liquide sont prélevés au niveau de la cathode, neutralisés et placés dans un tube II.

Dans chacun des tubes, on ajoute un petit morceau de fibrine et un quart de centimètre cube d'acide chlorhydrique.

Un tube III contenant 10 centimètres cubes d'eau distillée, de la fibrine, un quart de centimètre cube d'acide chlorhydrique sert de témoin.

Les trois tubes I, II et III sont placés à l'étuve à 50°. A 17 heures 30, la digestion de la fibrine est presque complète dans la tube I.

Aucune digestion n'est observée dans les tubes II et III.

Le 15 mars 1931, à 9 heures :

La fibrine est totalement digérée dans le tube I, alors qu'elle est restée intacte dans les tubes II et III.

EXPÉRIENCE II (12 mars 1931)

Électrolyse d'une solution de pepsine

L'électrolyse est arrêtée après deux heures.

A ce moment, le liquide de la branche positive est plus actif que celui de la branche négative.

1° Préparation de la solution diastasique.

Une solution de pepsine du commerce contenant 0 gr. 2 de pepsine pour 100 centimètres cubes d'eau distillée est préparée comme précédemment.

L'activité de la solution diastasique est éprouvée de la même façon que plus haut.

La digestion complète de la fibrine est constatée après deux heures de passage à l'étuve à 50° dans le tube qui a reçu la solution de pepsine.

2° Electrolyse de la solution.

Immédiatement après sa préparation, la solution est soumise à l'électrolyse.

Après deux heures, un louche uniforme est observé dans les deux branches ; de plus, de très fins grumeaux sont entraînés vers l'anode pour retomber ensuite vers le fond du tube.

L'électrolyse n'est pas prolongée.

3° *Constatation des résultats.*

Trois tubes, I, II, III, sont préparés comme dans l'expérience précédente.

Le tube I contient 10 centimètres cubes de la solution électrolysée prélevée à l'anode, un petit morceau de fibrine et un quart de centimètre cube d'acide chlorhydrique.

Le tube II, préparé de la même façon, contient au contraire les 10 centimètres cubes prélevés à la cathode. Le tube III sert de témoin.

Les trois tubes sont placés à l'étuve électrique à 50°.

Après une heure à l'étuve, on constate que la digestion de la fibrine a commencé dans le tube I ; le morceau a des contours moins nets et commence à se désagréger.

La fibrine est intacte dans les tubes II et III.

Après deux heures à l'étuve, le morceau de fibrine est presque complètement digéré dans le tube I. Aucun changement n'est observé dans les deux autres tubes.

Deux heures plus tard, la digestion de la fibrine est totale dans le tube I.

Un début de digestion est constaté dans le tube II. Le tube III n'a subi aucune modification.

Le 13 mars 1931, à 8 heures :

La fibrine est complètement digérée dans les tubes I et II.

Le tube III témoin ne présente aucun changement.

EXPÉRIENCE III (5 juin 1931)

Electrolyse d'une solution d'oxydase de champignons

L'électrolyse est arrêtée après quatre heures.

Nous constatons alors que le liquide de la branche négative a conservé toute son activité, au contraire le liquide de la branche positive est complètement inactif.

1° *Extraction de l'oxydase de champignons.*

Les champignons sont finement broyés, puis mis à macérer

dans quatre fois leur poids d'eau chloroformée qui dissout les diastases. Après contact de quelques heures, on presse le tout, on filtre ensuite ; un liquide noir est obtenu, que l'on reprend par deux fois son volume d'alcool afin de précipiter l'oxydase cherchée.

La filtration, pratiquée ensuite, laisse un dépôt noir qui est séché à l'étuve à 38°, l'oxydase est extraite.

2° Préparation de la solution diastasique.

100 milligrammes de précipité alcoolique ainsi extrait sont dissous dans 100 centimètres cubes d'eau distillée.

La solution obtenue par filtration est légèrement grisâtre ; un dépôt très léger persiste sur le filtre. Avec cette solution la teinture de gaiac fraîchement préparée donne une coloration bleue intense immédiate.

3° Electrolyse de la solution.

A 14 heures 30, l'électrolyse de la solution d'oxydase préparée extemporanément est commencée.

L'intensité du courant électrique est de 6 milliampères.

Après une demi-heure, un louche apparaît dans la branche négative.

A 17 heures 30, des grumeaux montent et descendent, entraînés vers la cathode.

Leur mouvement est lent, mais continu. Aucun louche n'est observé dans la branche positive.

A 18 heures 45, l'électrolyse est arrêtée.

L'entraînement des grumeaux est toujours très intense dans la branche négative.

4° Constatation des résultats.

Après quatre heures d'électrolyse, nous constatons que le liquide de la branche négative est basique ; au contraire celui de la branche positive est acide.

10 centimètres cubes de liquide sont prélevés avec une

pipette au sommet de chaque branche ; chaque prélèvement est versé dans un tube.

A l'aide du papier de tournesol, nous amenons le contenu de chaque tube à la neutralité. Pour le tube I, qui contient le liquide basique prélevé à l'anode, nous utilisons l'acide chlorhydrique ; pour le tube II qui contient le liquide acide prélevé à la cathode, c'est la soude qui est employée.

Après les prélèvements précédents, 10 centimètres cubes du liquide restant dans le tube en U dans lequel les grumeaux déposés au bas des branches se sont en partie dissous par agitation, sont versés dans le tube III.

Dans chacun des tubes I, II, III ainsi obtenus, nous ajoutons quelques gouttes de teinture de gaiac préparée extemporanément.

Un tube IV sert de témoin. Il contient 10 centimètres cubes de la solution diastatique non électrolysée et quelques gouttes de teinture de gaiac.

Après quatre minutes, nous ne constatons rien dans le tube I. Une coloration bleue intense a envahi tout le liquide contenu dans le tube II ; elle est également observée avec moins d'intensité dans le tube III. Enfin la réaction est aussi nette dans le tube IV que dans le tube II.

Après trois heures, rien n'est changé, aucune coloration n'est apparue dans le tube I. Le liquide contenu dans la branche négative seul a donc conservé toute son activité.

EXPÉRIENCE IV. (11 juillet 1931)

Électrolyse d'une solution d'oxydase de champignons

L'électrolyse est ici arrêtée après deux heures.

Le liquide contenu dans la branche négative est plus actif que celui de la branche positive.

L'extraction de l'oxydase est faite dans les mêmes conditions que pour l'expérience précédente.

1° Préparation de la solution diastasique.

Ici encore, 100 milligrammes du précipité alcoolique obtenu en traitant les champignons sont dissous dans 100 centimètres cubes d'eau distillée. La teinture de gaïac nous permet de constater l'activité de cette solution.

2° Electrolyse de la solution diastasique.

A 15 heures 10, le courant électrique est lancé, son intensité est de 6 milliampères.

Après une demi-heure, un louché uniforme intense est apparu dans la branche négative.

La branche positive est complètement claire et le restera jusqu'à la fin de l'expérience.

A 17 heures, quelques fins grumeaux commencent à être entraînés vers la cathode. L'électrolyse est alors arrêtée.

3° Constatation des résultats.

Quatre tubes, I, II, III, IV, sont préparés comme dans l'expérience précédente.

Le tube I contient 10 centimètres cubes de liquide électrolysé prélevés à l'anode, neutralisés par l'addition d'acide chlorhydrique.

Le tube II contient 10 centimètres cubes de liquide électrolysé prélevés à la cathode, neutralisés par l'addition de soude.

Le tube III contient 10 centimètres cubes du liquide restant dans le tube en U après avoir fait les deux prélèvements antérieurs.

Le tube IV témoin contient 10 centimètres cubes de la solution diastasique non électrolysée.

Quelques gouttes de teinture de gaïac fraîchement préparée sont ajoutées dans chacun des tubes.

Après trois à quatre minutes, la coloration bleue intense apparaît dans les tubes II et IV. Elle est moins nette dans le tube III. Aucun changement de coloration n'est observé dans le tube I.

Après une demi-heure seulement, le liquide contenu dans le tube I est légèrement teinté de bleu. La solution a donc en partie perdu son activité dans la branche positive.

CHAPITRE III

RECHERCHES

SUR LES CAUSES DE LA PERTE D'ACTIVITE DES SOLUTIONS DE DIASTASES SOUMISES A L'ELECTROLYSE PROLONGEE

A. PERTE D'ACTIVITÉ DES DIASTASES DIGESTIVES ET OXYDASES SOUMISES A L'ÉLECTROLYSE PROLONGÉE.

Comme l'avait déjà constaté F. MAIGNON, nous avons toujours observé, dans les diverses expériences que nous avons faites et que nous relatons plus loin, que sous l'influence de l'électrolyse prolongée, les solutions diastasiques, actives au début, deviennent inactives après quelques jours. De plus cette perte d'activité coïncide justement avec le défaut d'entraînement des micelles. C'est donc après quatre à cinq jours qu'en constatera cette perte d'activité, lorsque la dissociation électrolytique des éléments minéraux et organiques qui constituent la diastase est complète et définitive.

EXPÉRIENCE I (Mai 1930)

Electrolyse d'une solution de diastases de suc pancréatique de vache

Après électrolyse de quatre jours, la solution pancréatique, active au début de l'expérience, a perdu toute activité.

1° Préparation de la solution de diastases de suc pancréatique de vache.

200 milligrammes de suc pancréatique de vache coagulé par

l'alcool et desséché sont dissous dans 100 centimètres cubes d'eau distillée.

Pour la préparation de la solution et pour les détails de l'électrolyse, se reporter à l'expérience II relatée au chapitre II. L'électrolyse est prolongée pendant quatre jours, les 20, 21, 22 et 23 mai 1931.

2° Constatation de la perte d'activité de la solution.

Dès que l'on arrête le passage du courant, la solution diastasique électrolysée est versée dans un verre. Les grumeaux déposés au bas des branches du tube en U se dissolvent par agitation dans ce liquide, qui est neutre au papier de tournesol.

10 centimètres cubes de la solution diastasique électrolysée sont alors prélevés dans un tube I.

Un tube II contient 10 centimètres cubes de la solution diastasique non électrolysée.

L'addition d'un petit cube de fibrine dans chacun des tubes nous permet de constater qu'après passage de douze heures à l'étuve à 38° la digestion de la fibrine est nulle dans le tube I.

Au contraire elle est totale dans le tube II. Après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve, aucun changement n'est observé dans le tube I. La trypsine du suc pancréatique a donc perdu toute activité.

D'autre part, dans un tube contenant 10 centimètres cubes de la solution diastasique électrolysée, l'addition d'empois d'amidon ne donne, après douze heures de passage à l'étuve, aucune réduction. Avec la solution non électrolysée, par contre, quelques heures à l'étuve au contact de l'empois d'amidon suffisent pour obtenir une réduction intense.

L'amylase du suc pancréatique de vache a donc été elle aussi détruite sous l'influence de l'électrolyse prolongée.

EXPÉRIENCE II (Mars 1931)

Electrolyse d'une solution de pepsine du commerce

Après quatre jours d'électrolyse, la solution de pepsine, active au début de l'expérience, a perdu toute activité.

1° Préparation de la solution diastasique.

19 mars 1930, 14 heures 30.

0 gr. 2 de pepsine du commerce (titre 250) sont laissés pendant une demi-heure environ dans 100 centimètres cubes d'eau distillée. Pour permettre une dissolution à peu près complète, le liquide est agité fréquemment. La filtration pratiquée ensuite nous donne une solution blanchâtre. Un léger dépôt reste sur le filtre.

10 centimètres cubes de la solution ainsi préparée auxquels nous ajoutons un petit cube de fibrine et un quart de centimètre cube d'acide chlorhydrique sont placés dans un tube à l'étuve électrique à 50°.

La digestion de la fibrine est obtenue après deux heures ; la solution de pepsine est donc bien active. Un tube témoin contenant 10 centimètres cubes d'eau distillée, un cube de fibrine et de l'acide chlorhydrique, placé à l'étuve dans les mêmes conditions que le premier tube, n'est évidemment le siège d'aucune digestion.

2° Electrolyse de la solution de pepsine.

19 mars 1931.

A 16 heures, l'électrolyse est commencée. L'intensité du courant est de 6 milliampères.

Un léger louche apparaît bientôt dans la branche positive.

Après une heure, le louche est d'égale intensité dans les deux branches du tube en U.

20 mars 1931.

Le louche observé la veille est plus marqué dans la branche positive, au bas de laquelle des grumeaux commencent à se

déposer. Ceux-ci sont entraînés vers l'anode d'un mouvement lent et continu.

Au niveau des deux électrodes, une mousse abondante couvre la surface du liquide.

A 16 heures, la branche négative est redevenue complètement limpide. La branche positive au contraire contient un liquide uniformément louche dans lequel de fins grumeaux sont encore en mouvement.

Le dépôt augmente au bas du tube en U.

21 mars 1931.

A 8 heures, à l'aide d'un agitateur, la dissémination des grumeaux déposés au fond des branches fait réapparaître un courant montant et descendant plus intense au niveau de l'anode.

A 15 heures, le liquide de la branche positive semble s'éclaircir. L'entraînement des grumeaux est toujours très net.

22 mars 1931.

A 8 heures, par agitation, le dépôt de grumeaux est dissocié, mais ceux-ci se rassemblent immédiatement au fond de la branche : tout entraînement a cessé.

A 14 heures, la branche positive est complètement limpide. L'expérience est arrêtée peu après.

Le liquide contenu dans le tube U est versé dans un verre : la dissolution du dépôt y est immédiate.

3° Constatation de la perte d'activité.

23 mars 1931, 16 heures.

On place à l'étude à 50° :

Dans un tube I, 10 centimètres cubes de la solution électrolysée, un cube de fibrine et un quart de centimètre cube d'acide chlorhydrique ;

Dans un tube II, 10 centimètres cubes de la solution non électrolysée, un cube de fibrine et un quart de centimètre cube d'acide chlorhydrique ;

Dans un tube III, 10 centimètres cubes d'eau distillée, un cube de fibrine et un quart de centimètre cube d'acide chlorhydrique.

Les tubes sont agités fréquemment.

A 18 heures, la digestion de la fibrine est complète dans le tube II. Aucune modification n'est notée dans les autres.

24 mars 1931.

Aucun changement n'est observé. Les cubes de fibrine sont intacts dans les tubes I et III.

La pepsine a donc perdu toute activité après électrolyse, puisque la digestion de la fibrine n'est plus obtenue.

EXPÉRIENCE III (Mai-juin 1930)

Électrolyse d'une solution de l'oxydase de champignons

Après deux jours d'électrolyse, la solution est presque complètement inactive.

1° Préparation de la solution diastasique.

Après avoir extrait l'oxydase comme il est dit dans l'expérience III relatée au chapitre III, 100 milligrammes du précipité alcoolique obtenu sont dissous dans 100 centimètres cubes d'eau distillée. Après filtration, la solution est obtenue légèrement grisâtre.

2° Electrolyse de la solution.

30 mai 1931.

A 13 heures, l'électrolyse de la solution préparée extemporanément est commencée.

L'intensité du courant est de 5 milliampères.

Un louche apparait après quelques minutes dans la branche négative.

Deux heures plus tard, de fins grumeaux montent et descendent dans cette branche et sont entraînés vers la cathode,

A 16 heures, l'entraînement des grumeaux est de plus en plus intense. Certains d'entre eux se collent aux parois des tubes.

La branche positive est restée limpide. La mousse est abondante à la cathode.

31 mai 1931.

A 10 heures, à l'aide d'un agitateur, les grumeaux disposés le long des parois du tube en U se dissocient et se remettent en mouvement. Aucun changement n'est noté dans la branche positive.

Le soir, de fines particules continuent à parcourir la branche négative.

1^{er} juin 1931.

Par agitation, les grumeaux sont à nouveau entraînés vers l'électrode négative. Leur mouvement est plus lent que la veille.

A 15 heures, la branche négative s'est éclaircie. La branche positive n'a été le siège d'aucun changement depuis le début de l'expérience.

L'électrolyse est alors arrêtée.

3° *Constatations de la perte de l'activité.*

Deux tubes sont préparés.

Le premier contient 10 centimètres cubes de solution électrolysée auxquels on a ajouté quelques gouttes de teinture de gaïac.

Le deuxième contient 10 centimètres cubes de solution non électrolysée plus quelques gouttes de teinture de gaïac.

Après une heure, dans le premier tube, aucune coloration n'est observée.

Au contraire, dans le deuxième tube, la coloration bleue intense est immédiate.

Le lendemain, on constate la présence d'un léger dépôt bleu au fond du tube I.

L'oxydase n'a donc pas perdu en totalité son activité. Ceci est dû au fait que l'électrolyse n'a probablement pas été poursuivie assez longtemps. Quatre à cinq jours sont en effet nécessaires pour parvenir au stade de non entraînement des grumeaux, donc à la perte d'activité.

B. CAUSES DE LA PERTE D'ACTIVITÉ.

La perte d'activité d'une solution diastasique étant ainsi mise en évidence, lors de l'électrolyse prolongée, nous devons en rechercher la cause.

Nous avons vu que c'est au moment précis où la dissociation électrolytique des éléments minéraux et organiques est complète, où tout entraînement électrique a cessé, que la perte d'activité est totale. F. MAIGNON s'est demandé si on est là en présence d'une simple coïncidence ou s'il faut établir entre les deux phénomènes une relation de cause à effet.

On peut, en effet, supposer que la perte d'activité est due à l'action empêchante ou toxique de substances secondaires formées lors de l'électrolyse, ou même plus simplement de l'acidité de la solution constatée à l'anode à la fin de l'électrolyse.

a) La perte d'activité est-elle due à la formation de substances secondaires?

L'acide hypochloreux, l'acide persulfurique ont été mis en cause et cités comme substances formées lors de l'électrolyse et susceptibles d'amener la perte d'activité. F. MAIGNON, au cours d'expériences antérieures, a étudié l'action empêchante de ces acides à des concentrations plus de cent fois supérieures à celles capables de se former en cours d'électrolyse.

Pour cela des solutions de diastases ont été mises en contact avec des solutions chlorhydriques électrolysées pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures = 60 centimètres cubes d'eau distillée contenaient 1 goutte d'acide chlorhydrique ; après électrolyse, la présence d'acide hypochloreux était facilement décelable, à l'odeur et à l'aide de la solution d'amidon dans

l'iodure de potassium. Après contact de un à trois jours entre ces solutions ainsi électrolysées et des solutions fraîches de diastase, et après neutralisation de l'acidité, l'activité digestive de la trypsine vis-à-vis de la fibrine n'a été nullement modifiée ; seule l'activité de l'amylase vis-à-vis de l'empois d'amidon a semblé diminuée.

Les mêmes expériences ont été faites en employant des solutions électrolysées de NaCl à 1 pour mille pour l'acide hypochloreux et de $\text{SO}^4 \text{Na}^2$ à 1 pour mille pour l'acide persulfurique. Jamais F. MAIGNON n'a observé la perte d'activité des solutions diastasiques soumises à leur contact.

D'autre part, il est à remarquer que les traces d'acide hypochloreux formées lors de l'électrolyse des solutions de diastases sont très faibles, puisque la solution d'amidon dans l'iodure de potassium n'a jamais permis de les déceler.

Il résulte donc de ces travaux antérieurs que la perte d'activité ne saurait être attribuée à la formation d'acide hypochloreux ou persulfurique.

b) La perte d'activité est-elle due à la forte acidité constatée à la fin de l'électrolyse?

Après électrolyse d'une solution de suc pancréatique de vache, nous avons toujours trouvé que le liquide de la branche positive était fortement acide. En y plongeant un papier de tournesol bleu on obtient immédiatement le virage au rouge.

Nous avons recherché si la perte d'activité constatée n'était pas due à cette acidité ; nous avons donc mis pendant un temps égal à la durée de l'électrolyse, une solution diastasique de même concentration que celle électrolysée, en présence d'une acidité au moins égale à celle trouvée lors de l'électrolyse. Pour cela, à la fin de chaque expérience, nous avons, à l'aide d'un colorant approprié et du chromoscope, relevé le pH du liquide prélevé à l'anode ; une solution fraîche de la diastase était alors amenée à ce pH par addition d'acide chlorhydrique

et laissé ainsi durant un temps égal à celui de l'électrolyse ; jamais, après ce contact, nous n'avons constaté la perte d'activité de la solution de suc pancréatique.

EXPÉRIENCE I (Novembre 1930)

Electrolyse d'une solution de suc pancréatique de vache

Après six jours d'électrolyse, la solution pancréatique est devenue complètement inactive ; l'acidité à la branche positive est de $\text{pH} = 2$. Après avoir amené au $\text{pH} = 2$ une solution de suc pancréatique, nous constatons après six jours que la trypsine est restée active. L'amylase seule semble avoir perdu de son activité.

1° Préparation de la solution diastasique.

12 novembre 1930.

200 milligrammes de suc pancréatique de vache coagulé par l'alcool desséché et finement pulvérisé sont dissous dans 100 centimètres cubes d'eau distillée. Après une heure de contact au cours de laquelle on agite fréquemment le liquide, la filtration nous permet d'obtenir une solution limpide à reflets jaunâtres.

A 17 heures, deux tubes sont placés à l'étuve à 38° . Le premier contient 10 centimètres cubes de la solution ainsi préparée, plus un petit cube de fibrine. Le deuxième renferme lui aussi 10 centimètres cubes de la solution auxquels on ajoute de l'empois d'amidon préparé extemporanément. Une couche de xylol protège le contenu de ces tubes contre toute action venue de l'extérieur.

Deux tubes témoins dans lesquels la solution diastasique est remplacée par de l'eau distillée, sont également préparés et mis à l'étuve.

Le lendemain, dans le premier tube, la digestion du cube de fibrine est totale.

D'autre part, le contenu du deuxième tube donne alors une réduction nette avec la liqueur de Fehling.

Dans les tubes témoins, au contraire, aucune modification n'est observée.

2° Electrolyse de la solution.

12 novembre 1930.

A 15 heures 45, l'électrolyse commence ; nous notons un dégagement gazeux abondant aux deux électrodes.

Deux heures plus tard, un léger louche uniforme apparaît dans le liquide de la branche positive.

Peu à peu il devient plus intense. L'intensité du courant électrique est alors de 7 milliampères.

Le soir, pas de changement.

13 novembre 1930.

A 8 heures, on aperçoit nettement dans la branche positive de fins grumeaux qui montent et descendent ; un léger dépôt s'est formé au bas du tube en U.

La mousse est très abondante au niveau des deux électrodes.

A 11 heures, l'entraînement des grumeaux est de plus en plus intense.

La branche négative est restée complètement claire depuis le début de l'expérience.

Le soir, de fines particules continuent à parcourir la branche positive. Le dépôt s'épaissit au bas de celle-ci.

Quelques grumeaux sont collés aux parois du tube.

14 novembre 1930.

Le matin, le liquide de la branche positive est moins louche. Le mouvement des grumeaux s'est ralenti. Toutefois il persiste pendant toute la journée.

15 novembre 1930.

Par agitation, le dépôt, devenu très abondant, se dissocie et l'entraînement vers l'anode reprend avec plus d'intensité.

La branche négative n'a subi aucune modification depuis le début.

16 novembre 1930.

Le liquide est à nouveau agité ; les grumeaux se détachent et se remettent en mouvement.

17 novembre 1930.

Les grumeaux entraînés sont de plus en plus rares, par agitation toutefois on parvient à obtenir à nouveau un courant montant et descendant assez intense qui persiste plus d'une heure.

18 novembre 1930.

La dissociation du dépôt à l'aide d'un agitateur ne permet plus aux grumeaux d'être entraînés par le courant électrique ; ceux-ci se rassemblent immédiatement pour reformer le dépôt.

A 14 heures, on arrête l'expérience. L'intensité du courant est alors de 5 milliampères.

3° Recherche du pH.

Le liquide contenu dans la branche positive présente une réaction nettement acide. Au niveau de l'anode on prélève donc 4 centimètres cubes de la solution électrolysée.

A l'aide de la thymosulfonephtaléine (virage acide) et d'un chromoscope, nous trouvons un pH égal à 2.

4° Constatation de la perte d'activité de la solution électrolysée.

La méthode employée ici est la même que celle décrite dans l'expérience I de la première partie du chapitre.

5° *Conservation de l'activité de la solution pancréatique après contact de six jours à un $\text{pH}=2$.*

20 novembre 1930.

Une solution de suc pancréatique est préparée à la même concentration et dans les mêmes conditions que celle qui a servi à l'électrolyse. Elle est ensuite amenée à un pH égal à 2 par addition d'une solution d'acide chlorhydrique diluée. La solution diastasique est ainsi laissée pendant six jours.

26 novembre 1930.

La solution est alors ramenée à un pH neutre au tournesol ; nous employons pour cela une solution diluée de lessive de soude.

Quatre tubes sont alors préparés et mis à l'étuve à 38° .

Le tube I contient : 10 centimètres cubes de la solution diastasique laissée au pH 2 durant 6 jours, plus un petit cube de fibrine.

Le tube II contient 10 centimètres cubes de la solution diastasique laissée au pH 2 durant six jours, plus de l'empois d'amidon.

Les tubes II et IV servent de témoin. La solution diastasique y est remplacée par de l'eau distillée.

Après douze heures, la digestion de la fibrine est complète dans le tube I. Elle est nulle dans le tube témoin.

La trypsine a donc conservé toute son activité.

Au contraire le tube II donne alors une réduction peu nette avec la liqueur de Fehling ; l'activité de l'amylase semble donc diminuée.

Mais, peut-on objecter, la digestion de la fibrine, dans ce cas, n'est-elle pas due à la présence dans la solution de sels qui agissent comme catalyseurs ?

Pour répondre à cette objection, nous avons préparé une solution de $\text{pH}=2$ qui contenait de l'eau distillée et de l'acide chlorhydrique. Nous avons ramené cette solution à la neutra-

lité au tournesol en ajoutant goutte à goutte une solution diluée de lessive de soude.

Un cube de fibrine plongé dans le liquide neutre obtenu ne subit aucune digestion.

EXPÉRIENCE II

Electrolyse d'une solution de suc pancréatique

Après six jours d'électrolyse, la solution diastasique est totalement inactive.

Le liquide de la branche positive a un pH de 2,4.

Après avoir amené au pH 2,4 une solution de suc pancréatique de même concentration que la précédente, nous constatons que six jours plus tard la solution est encore active. L'amylase seule a vu son activité diminuée.

1° Préparation de la solution.

200 milligrammes de suc pancréatique coagulé par l'alcool et desséché sont dissous dans 100 centimètres cubes d'eau distillée, dans les mêmes conditions que pour l'expérience précédente.

Ici encore l'activité de la solution obtenue est facilement observée.

2° Electrolyse de la solution pancréatique.

Cette électrolyse est prolongée durant six jours (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 décembre 1930).

Les observations sont les mêmes que précédemment. Un louche uniforme remplit la branche positive dans laquelle se déplacent bientôt de fins grumeaux.

La branche négative reste claire pendant toute l'expérience.

Au sixième jour l'agitation du dépôt formé ne permet plus de faire réapparaître l'entraînement des grumeaux vers l'anode.

3° Recherche de l'activité.

On pratique la recherche de l'acidité ici encore à l'aide du chromoscope et de la phénolsulfonephtaléine. Le liquide de la branche positive a un pH 2,4.

4° Constatation de la perte d'activité de la solution électrolysée.

Comme pour les expériences qui précèdent.

5° Conservation de l'activité de la solution pancréatique après contact de six jours à un pH égal à 2,4.

Ici encore la solution pancréatique de même concentration que celle électrolysée est amenée au pH 2,4 par addition d'une solution d'acide chlorhydrique diluée.

C'est une solution de lessive de soude qui est employée pour neutraliser cette solution après six jours.

Nous constatons qu'après ce contact de six jours en milieu acide, la trypsine est restée active et amène une digestion complète de la fibrine. Au contraire l'amylase a subi une diminution d'activité.

EXPÉRIENCE III (Janvier 1931)

Electrolyse d'une solution de suc pancréatique

Ici encore l'électrolyse est arrêtée après six jours. La solution de diastases de suc pancréatique a alors perdu toute activité ; de plus, comme dans les cas vus plus haut cette perte d'activité ne peut être attribuée à l'acidité constatée à l'anode à la fin de l'électrolyse.

La concentration de la solution est la même que dans les expériences précédentes. 200 milligrammes de suc pancréatique de vache coagulé par l'alcool, puis desséché sont dissous dans 100 centimètres cubes d'eau distillée.

Par la digestion de la fibrine et par la réduction avec la liqueur de Fuhling (réduction obtenue après addition d'empois d'amidon) nous voyons que cette solution contient bien des diastases actives : trypsine et amylase.

L'électrolyse ne nous fournit aucun renseignement spécial. La branche positive devient louche et, après une journée, les grumeaux sont entraînés vers l'anode. Au contraire, la solution reste claire dans la branche négative.

Après six jours, la déminéralisation du groupement organominéral est complète : on arrête l'expérience. Le pH du liquide au niveau de l'anode est fortement acide et égal 2,8. La solution diastasique a, de plus, perdu toute activité.

Une solution de même concentration que celle électrolysée est alors amenée à un pH de 2,8 par addition d'acide chlorhydrique.

Après six jours de contact cette solution est toujours active : le rôle joué par l'acidité dans la perte d'activité est donc nul.

Toutes ces expériences tendent donc à montrer qu'on ne peut attribuer le phénomène constaté à l'action empêchante de produits de formation secondaire ou à l'acidité du liquide dans la branche positive. F. MAIGNON a même complété cette expérimentation en dissolvant des diastases fraîches de suc pancréatique dans une solution de diastases électrolysées pendant six jours et devenue inactive. Toutes les substances secondaires qui avaient pu se former au cours de l'électrolyse étaient nécessairement contenues dans cette solution.

Après trois jours de contact, le liquide a été mis en présence de fibrine et d'amidon dans des tubes différents : la fibrine a été digérée dans les temps constatés habituellement ; la réduction par la liqueur de Fehling a été moins nette que normalement. La trypsine n'avait donc pas été touchée, l'amylase seule semble avoir eu son action ralentie.

Comme conclusion, il est donc logique de penser que, tout au moins pour la trypsine, la perte d'activité est liée uniquement à la dissociation complète des éléments minéraux et organiques, dissociation accompagnée d'une perte de toute affinité de la micelle organique pour ces éléments minéraux.

CHAPITRE IV

PERTE D'ACTIVITÉ THÉRAPEUTIQUE DES DIASTASES TISSULAIRES SOUMISES A L'ELECTROLYSE PROLONGÉE

Notre Maître nous a donné l'idée de soumettre à l'électrolyse prolongée une solution de diastases tissulaires, pour constater si les résultats obtenus sont à rapprocher de ceux observés avec les diastases analysantes. En soumettant à l'électrolyse prolongée une solution de diastases de rein extraites comme il sera dit plus loin, nous avons constaté que cette solution perdait toute activité thérapeutique.

C'est l'objet de l'expérience suivante, que nous avons faite en collaboration avec un de nos camarades, NOUVEL, qui fait actuellement sa thèse sur le traitement des néphrites par l'administration de diastases de rein.

Electrolyse d'une solution de diastases tissulaires de rein

Après six jours d'électrolyse, la solution diastasique a perdu toute activité thérapeutique.

1° Extraction des diastases tissulaires.

F. MAIGNON a employé pour l'extraction des diastases de rein la méthode préconisée par A. LEBEDEF pour l'extraction de la zymase alcoolique à partir de la levure desséchée. On fait macérer dans l'eau chloroformée pendant trois heures les poudres de rein obtenues dans le vide sulfurique à basse température. On filtre ; le filtrat est alors précipité par l'alcool éther. Le précipité est desséché à l'étuve à 40° ; il est ensuite repris

Chien 283 à insuffisance rénale

	26 mars 1931	19 avril 1931	31 mai 1931	19 juin 1931
Urée du sang	0,54	0,33	0,58	0,60
Azote total du sang	0,30	0,29	0,31	0,33
Rapport azotémique	0,84	0,58	0,87	0,85
Urée de l'urine				
} par litre...	17,5	22,5	16,6	16,9
} par 24 h...	13,1	24	13,7	15,75
Azote non protéique de l'urine:				
} par litre...	17,1	13,8	16,4	16,1
} par 24 h...	13,3	14,7	13,6	14,97
Rapport azoturique	0,46	0,76	0,47	0,49
Volume d'urine	750 cc.	1.070 cc.	830 cc.	930 cc.

A
B

Chaque trait A et B indique une injection de diastase de rein.

On injecte { en A 50 mmgr en solution physiologique.
 } en B — — — aqueuse électrolysée.

par l'eau, dans laquelle se dissolvent les diastases, ce qui permet d'éliminer les protéines coagulées.

Les solutions diastasiques obtenues sont dialysées contre l'eau distillée pour amener l'élimination des cristaalloïdes. On peut ensuite les stériliser aux rayons ultra-violets et les mettre en ampoules.

2° Résultats cliniques obtenus avec ces solutions diastasiques avant l'électrolyse.

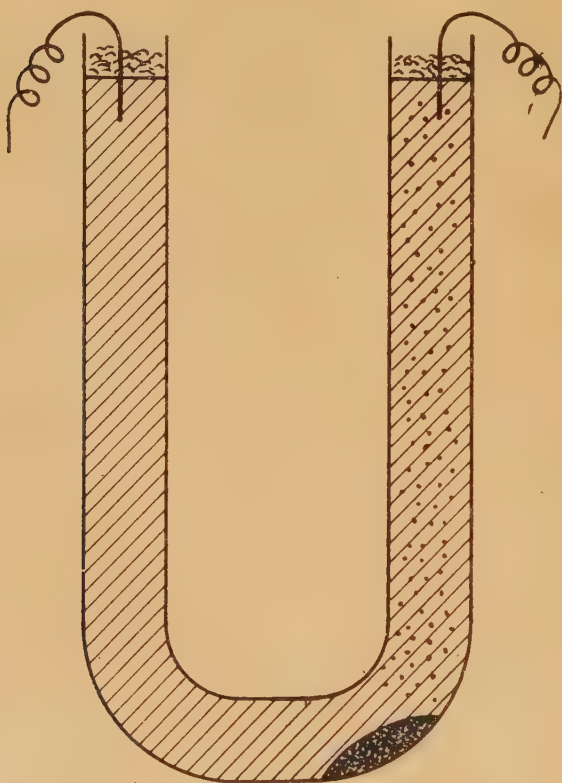
Par l'introduction dans l'organisme malade de diastases de rein, on obtient immédiatement une amélioration de l'état du chien atteint d'insuffisance rénale. Aussitôt après l'injection de la solution diastasique, la perméabilité du rein à l'eau, aux sels, à l'urée augmente.

On note une diminution du rapport azotémique, une aug-

mentation du volume d'urine, de la quantité d'urée contenue dans cette urine ; l'état général du sujet s'améliore.

Le tableau ci-contre montre d'ailleurs les résultats satisfaisants obtenus sur un chien à insuffisance rénale après injection de 50 milligrammes de diastases de rein en solution physiologique. Les dosages pratiqués le 26 mars 1931 nous permettent de déceler la présence d'une néphrite sur ce chien ;

ASPECT DU TUBE EN U LE 12 JUIN



De fins grumeaux sont entraînés vers la cathode ;
les 2 branches sont uniformément louches.
Un dépôt commence à se former au fond du tube.
Une mousse abondante occupe la surface du liquide
au niveau de chaque électrode.

immédiatement après l'injection sous-cutanée de la solution diastasique, on constate que les troubles observés antérieurement s'améliorent nettement. Les résultats enregistrés le 19 avril 1931 contribuent d'ailleurs à nous le prouver.

Si l'on ne pratique qu'une seule injection de diastases de rein, les coefficients urinaire et sanguin mettent environ un mois à reprendre leur valeur première. C'est ce que nous montrent d'ailleurs les analyses du 3 mai, pratiquées six semaines après l'injection.

A ce moment l'injection de la solution diastasique électrolysée ne produit plus les résultats constatés le 19 avril après injection d'une solution de diastases de rein non électrolysés, comme nous le prouvent les analyses du 19 juin.

3° *Electrolyse de la solution de diastases de rein.*

Soumettons à l'électrolyse prolongée dans un tube en U avec électrodes de platine, une solution contenant 50 milligrammes de diastases dans 100 centimètres cubes d'eau distillée.

La solution est obtenue limpide après filtration.

11 juin 1931.

A 17 heures, le courant est lancé ; son intensité est de 7 milliampères.

Un dégagement gazeux abondant est observé aux deux électrodes.

12 juin 1931.

A 8 heures, le liquide contenu dans les deux branches du tube est uniformément louche.

Des grumeaux abondants sont entraînés vers la cathode.

A 17 heures, aucun changement n'est noté.

13 juin 1931.

Le matin, les grumeaux sont déposés au fond du tube.

Par agitation, ils reprennent leur mouvement et parcourent en tous sens les deux branches.

A 16 heures, l'entraînement des grumeaux persiste ; le liquide est toujours uniformément louche.

14 juin 1931.

Le liquide s'éclaircit sensiblement ; toutefois le louche est resté intense dans la branche négative.

Le dépôt est à nouveau dissocié à l'aide d'un agitateur ; l'entraînement reprend.

15 juin 1931.

Le trouble tend de plus en plus à disparaître ; toutefois le louche de la branche négative reste toujours plus net que dans la branche positive. L'intensité du courant électrique est alors de 8 milliampères.

16 juin 1931.

L'agitation du dépôt fait réapparaître le mouvement montant et descendant des grumeaux ; mais après une heure ceux-ci sont à nouveau rassemblés au fond du tube.

17 juin 1931.

Le trouble a totalement disparu dans les deux branches.

L'électrolyse est arrêtée.

Le liquide électrolysé est versé dans un verre. La dissolution des grumeaux déposés y est immédiate.

4° Constatacion de la perte d'activité thérapeutique après électrolyse prolongée.

Nous avons vu plus haut que les coefficients urinaires et sanguins avaient mis six semaines à reprendre leurs valeurs primitives du 26 mars ; les analyses faites le 31 mai le montrent bien.

Le 17 juin au soir, une injection sous-cutanée de 25 milligrammes de diastases de reins électrolysées est pratiquée ; le lendemain matin l'injection est répétée dans les mêmes conditions ; ces 50 milligrammes de diastases électrolysées, introduits sous la peau du chien, n'ont aucune influence sur l'état

du sujet, contrairement à ce que produit une injection de diastases non électrolysées.

Le 19 juin, en effet, les dosages effectués et relatés dans le tableau ci-contre ne permettent de constater aucune amélioration ; le rapport azotémique n'a pas varié ; la quantité d'urée dans l'urine, le volume d'urine n'ont pas augmenté ; l'état général est resté mauvais.

La solution de diastases de rein a donc perdu toute activité thérapeutique après électrolyse prolongée. Tous les résultats obtenus au cours de cette expérience sont à rapprocher de ceux observés avec toutes les diastases. Le passage du courant électrique a fait apparaître dans la solution de diastases de rein de fins grumeaux animés d'un mouvement montant et descendant surtout dans la branche négative. C'est lorsque tout entraînement a cessé, après six jours d'électrolyse, que la perte d'activité thérapeutique a été observée ; c'est ce que nous avons déjà constaté dans les expériences décrites aux chapitres précédents.

CONCLUSIONS

1° Sous l'influence des courants électriques, la pepsine et la trypsine subissent un entraînement dans le même sens, vers l'électrode positive, tandis que les oxydases vont à l'électrode négative.

2° La perte d'activité des solutions diastasiques soumises à l'électrolyse prolongée (courant de 110 volts) n'est pas due aux modifications de pH survenues aux électrodes. F. MAIGNON a déjà montré que d'autres produits de l'électrolyse, tel que l'acide hypochloreux, l'acide persulfurique, doivent être mis hors de cause. Il est logique de l'attribuer à la dissociation complète et définitive du complexe diastasiqne organo-minéral.

3° Les extraits tissulaires obtenus par F. MAIGNON, en utilisant la méthode de LEBEDEF, extraits qui possèdent des propriétés thérapeutiques, avec spécificité d'organe, perdent toute activité thérapeutique par l'électrolyse prolongée et se comportent en cela comme des diastases.

Vu : LE DOYEN : Vu : LE PRÉSIDENT DE THÈSE :
BALTHAZARD. STROHL.

Vu et permis d'imprimer :

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS :
S. CHARLETY.

BIBLIOGRAPHIE

- CRÉQUIGNE (G.). — De l'emploi des diastases tissulaires en médecine vétérinaire. Traitement de l'eczéma par les diastases tissulaires de foie thyroïde. (Thèse Paris, 1927, VIGOT FRÈRES, édit.).
- DUCLAUX (E.). — Traité de microbiologie, (tome II, Paris, 1899).
- HUGOUNENCQ et LOISELEUR. — Sur la superposition des phénomènes de dissociation et d'adsorption élective dans les diastases protéolytiques (*Compte rendu de l'Académie des Sciences*, Tome 181, p. 149.)
- — — — — Sur la constitution des diastases protéolytiques et le mécanisme de leur action (*Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, T. VII, août-septembre 1925.)
- — — — — Sur la biochimie des électrolytes (*Société de Chimie Biologique*, t. VIII, juin-juillet 1926.)
- KING LI PLIN. — De l'insuffisance hépatique. Etude critique de quelques-uns de ces signes. Essai de traitement par les diastases tissulaires (Thèse Lyon, REY, édit., 1921-1922.)
- LACOMBE (H.). — Les diastases tissulaires en thérapeutique. Essai de zymothérapie pulmonaire. (Thèse Lyon, BOSCH et RIOU FRÈRES, édit. 1922.)
- MAIGNON (F.). — Action de l'électrolyse sur les solutions de diastases (*C. R. de la Soc. de Biologie*, t. 43, p. 400, 1925.)
- — — — — Nouvelles recherches sur l'électrolyse des solutions de diastases et leur teneur en acide phosphorique et silice (*C. R. de la Soc. de Biologie*, t. 178, p. 420 et 654, 1924.)
- — — — — Recherches sur la constitution et le mode d'action des catalyseurs biochimiques ou diastases. Des effets de l'électrolyse sur les diastases du suc pancréatique et l'amylase de l'orge germée. (*C. R. de la Soc. de Biologie*, t. 178, p. 806, 1924.)
- — — — — Recherches sur la constitution et le mode d'action des catalyseurs biochimiques ou diastases. Des effets de l'électrolyse sur les diastases du suc pancréatique et l'amylase de l'orge germée. (*C. R. de la Soc. de Biologie*, t. 178, p. 806, 1924.)
- — — — — Propriétés thérapeutiques des diastases tissulaires (*Journal de Médecine de Lyon*, N° 64, 5 septembre 1922.)
- — — — — Recherches sur les propriétés thérapeutiques des diastases tissulaires. Organozythérapie (16^e Congrès de Médecine, Paris, octobre 1922.)

MAIGNON (F.). — Recherches sur les propriétés physiologiques et thérapeutiques des diastases tissulaires. Une nouvelle méthode de traitement = l'organozymothérapie (*Communication à la Société Médicale des Hôpitaux de Lyon*, séance du 13 juin 1922. In *Lyon Medical*, du 10 novembre 1922, N° 21, page 983.)

— De l'existence des diastases de synthèses. Explication des effets de l'organothérapie. Une nouvelle méthode thérapeutique : l'organozymothérapie (*C. R. de la Société de Biologie*, 1922, t. 86, page 441.)

— Conséquences de la spécificité d'organe des diastases tissulaires : utilisation de ces derniers pour la détermination de l'organe dont l'insuffisance est la cause d'un état pathologique. Application de ces données à l'étude du rôle physiologique de certains organes (*C. R. de la Soc. de Biologie*, p. 444, 1922.)

— Recherches sur les propriétés physiologiques et thérapeutiques des diastases tissulaires. De l'existence des diastases synthétisantes (*C. R. de l'Acad. des Sciences*, t. 174, p. 566, 1922.)

— Utilisation des diastases tissulaire pour la détermination de l'organe dont l'insuffisance est la cause d'un état du rôle pathologique déterminé. Application de cette méthode clinique à l'étude du rôle physiologique de certains organes. (*C. R. de l'Académie des Sciences*, t. 174, p. 698, 1922.)

— Effets cliniques des diastases tissulaires de muscles lisses ; contribution à l'étude étiologique de la constipation (*C. R. de la Soc. de Biologie*, t. 76, p. 937, 1922.)

— Effets cliniques des diastases tissulaires du foie, d'estomac, d'intestin, etc..., interprétations des résultats, discussion de l'hypothèse envisageant les substances employées comme des catalyseurs biochimiques (*C. R. de la Société de Biologie*, 1922.)

— De la compensation nerveuse en physiologie musculaire lisse (*Communication faite à la Société de Pathologie comparée*, séance du 8 janvier 1924.)

MAIGNON (F.) et CROIZÉ (D.). — Les modifications du pH interviennent-elles dans la perte d'activité des solutions de diastases à l'électrolyse prolongée (*C. R. Soc. Biol.*, janvier 1932.)

— L'influence de l'électrolyse prolongée sur les solutions d'oxydases (*C. R. Soc. Biol.*, janvier 1932.)

MAIGNON (F.), NOUVEL et CROIZÉ (D.). — Influence de l'électrolyse prolongée sur les extraits tissulaires obtenus par précipitation alcoolique de macérations aqueuses de poudres d'organes (*C. R. Soc. Biol.*, janvier 1932.)

- MARTIN (J.-F.), KING-LI-PIN et VASSITCH. — Effets de l'administration des diastases tissulaires hépatiques sur la crise hémoclasique digestive provoquée et la glycosurie phloridzinique (*C. R. Acad. de Médecine de Paris*, 1922.)
- MARTIN (J.F.) et BOCCA (C.). — Quelques résultats thérapeutiques obtenus avec les diastases tissulaires du poumon. (*Communication à la Société Médicale des Hôpitaux de Lyon*, séance du 20 juin 1922. *C. R. in Lyon Médical* de 25 novembre.)
- SCHAEFFER (Y.). — Les ferments en biologie (*Masson*, édit., Paris.)
- THOMAS (F.). — Cours de chimie biologique. Tomes I et II, 1929.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	9
CHAPITRE PREMIER	
Effets comparatifs de l'électrolyse sur les solutions de protéines inactives et les solutions de diastases. — Expériences	11
CHAPITRE DEUXIEME	
Etude de l'entraînement des micelles diastasiques au cours de l'électrolyse. — Expériences	21
CHAPITRE TROISIEME	
Recherches sur les causes de la perte d'activité des solutions de diastases soumises à l'électrolyse prolongée.....	31
A. — Perte d'activité des diastases digestives et oxydases soumises à l'électrolyse prolongée. — Expériences.....	31
B. — Causes de la perte d'activité	37
a) La perte d'activité est-elle due à la formation de substances secondaires ?	37
b) La perte d'activité est-elle due à la forte acidité constatée à la fin de l'électrolyse. — Expériences.....	38
CHAPITRE QUATRIEME	
Perte d'activité thérapeutique des solutions de diastases tissulaires soumises à l'électrolyse prolongée	46
CONCLUSIONS	52
BIBLIOGRAPHIE	53

